Beiträge

zur

Kenntniss des Blutfarbstoffes.

Von

Alfred Jaquet,

Assistenten am physiologischen Institute der Universität.

BASEL.

Schweighauserische Buchdruckerei.

1889.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548826_0147

Beiträge

zur

Kenntniss des Blutfarbstoffes.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doctorwürde

der hohen medicinischen Facultät zu Basel

vorgelegt von

Alfred Jaquet,

Assistenten am physiologischen Institute der Universität.

Genehmigt auf Antrag von Herrn Prof. Dr. Bunge.

BASEL.

Schweighauserische Buchdruckerei.

1889.

MEINEN VEREHRTEN LEHRERN

HERRN PROF. DR. G. BUNGE

UND

HERRN PROF. DR. F. MIESCHER

IN DANKBARER HOCHACHTUNG

GEWIDMET VOM

VERFASSER.

Beiträge zur Kenntniss des Blutfarbstoffes.

Veranlasst durch die Abweichungen, welche in den einzelnen Angaben über die quantitative Zusammensetzung des Pferdebluthämoglobins bestehen, stellte sich Zinoffsky[1]) die Aufgabe, diesen Gegenstand näher zu untersuchen, und an einem möglichst reinen Präparate die Bestimmungen zu wiederholen. Die Resultate seiner Untersuchungen zeigten eine solche Abweichung von den bisherigen Angaben, dass es nothwendig wurde, die Frage weiter zu verfolgen, um jede Möglichkeit eines Irrthums auszuschliessen. Auf Anregung des Herrn Prof. Bunge fing ich schon vor zwei Jahren an, den Blutfarbstoff von anderen Thierspecies zu untersuchen, mit specieller Berücksichtigung des Verhältnisses zwischen Eisen und Schwefel.

Hundehämoglobin.

Darstellung der Präparate.

Die Hauptschwierigkeit bei der Lösung dieser Frage ist die Darstellung eines möglichst reinen Präparates. Die Methode, die Hoppe-Seyler[2]) angewandt hat, um grössere

[1]) Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. X, S. 16—35, 1886.
[2]) Med.-chem. Untersuchungen, S. 181, Heft II, 1866.

Mengen krystallisirten Hämoglobins darzustellen, ist eine höchst einfache und bequeme. Sie ist auch später, wenigstens in ihren grossen Zügen, von den meisten Forschern benutzt worden. Nachdem er die Blutkörperchen vom Serum getrennt hat durch mehrmaliges Auswaschen mit einer verdünnten Steinsalzlösung und Absetzenlassen der Blutkörperchen, löst er diese in Aether und ein wenig Wasser. Diese Procedur nimmt aber mehrere Tage in Anspruch, und trotzdem man in der Kälte operirt, ist die Gefahr einer theilweisen Zersetzung des Präparates zu befürchten. Aus der rothen klaren Lösung krystallisirt das Hämoglobin gewisser Thierarten bei niedriger Temperatur schon von selbst; für die anderen Blutarten setzt man der abgekühlten Lösung 1/4 Vol. 80 % Alkohol zu. Der Krystallbrei wird in Wasser bei 35° gelöst, filtrirt, abgekühlt und bei Zusatz von Alkohol von neuem krystallisirt. Die Krystalle werden so lange umkrystallisirt, bis man denkt, man habe ein reines Präparat vor sich.

Diese Methode hat aber einzelne schwache Seiten, die auf die Reinheit des Präparates von Einfluss sein können. Für gewisse Blutarten ist das Trennen von Serum und Blutkörperchen mittelst verdünnter Kochsalzlösung sehr schwierig und wird erst durch die Anwendung einer guten Centrifuge bewerkstelligt werden können. Ferner bleiben bei der Hoppe-Seyler'schen Methode die Stromata in der Blutkörperchenlösung. Sie werden von den Hämoglobinkrystallen leicht eingeschlossen, so dass man bei der dritten Umkrystallisation noch Stromata in der Lösung findet. Zinoffsky [1]) hat zur Lösung, oder besser zur Aufquellung der Stromata eine verdünnte Ammoniaklösung empfohlen, die

[1]) l. c. S. 11.

nachher mit verdünnter Salzsäure neutralisirt wird. Mit Baryt oder salzsaurem Protamin aus Lachssperma, oder wie von Wooldridge[1]) empfohlen wurde, mit saurem schwefelsaurem Natron ist es möglich, die Stromata zu fällen; man risquirt aber, wie es von Hüfner[2]) hervorgehoben worden ist, betreffend der Anwendung von Ammoniak durch Zinoffsky, dass das ohnehin leicht zersetzbare Hämoglobin von diesen Mitteln angegriffen wird. Durch Anwendung von wenig Baryt beobachtete ich in einer Lösung von Hühnerblut, dass die Krystallisation wesentlich beeinträchtigt wird und dass das Hämoglobin auf Zusatz von wenig Alkohol ($^1/_{10}$ Theil) meist in amorphem Zustand ausfällt. Hier auch kann die Anwendung einer guten Centrifuge die Aufgabe wesentlich erleichtern.

Wenn man eine Blutkörperchenlösung zwei Stunden lang centrifugirt, so setzen sich die Stromata etwas ab, so dass man die obern Flüssigkeitsschichten durch ein doppeltes Filter leicht filtriren kann, was sonst nur mit grosser Mühe und häufigem Filterwechsel geschehen kann, da die Stromata die Filterporen verstopfen und die Flüssigkeit nicht mehr durchlassen. Auf diese Weise erhält man eine Lösung, die nur wenig Stromata enthält. Diese kann man durch weiteres Centrifugiren und Umkrystallisiren wegschaffen.

Bei der Darstellung meiner Präparate habe ich im Grossen und Ganzen das Verfahren angewandt, welches Zinoffsky für die Darstellung seines Präparates III benutzt hat.

---

[1]) Arch. f. Anatomie u. Physiol., 1881, S. 387.

[2]) Beitrag zur Lehre vom Blutfarbstoff in den Beiträgen zur Physiologie. Carl Ludwig zu seinem 70. Geburtstage gewidmet von seinen Schülern. S. 75, 1887.

Präparat I.[1])

Von zwei grossen Hunden wurden 3,7 Liter defibrinirten Blutes erhalten und durch Centrifugiren vom grössten Theil des Serums befreit. Der Blutkörperbrei wurde mit dem doppelten Volumen Wasser versetzt, auf 35° erwärmt, abgekühlt und dann mit 15 CC. Aether versetzt. Die Lösung wurde durch ein doppeltes Faltenfilter filtrirt, was nur mit grossem Substanzverlust und mehrfachem Filterwechsel gelang. Das klare Filtrat wurde auf 0° abgekühlt und mit 1/4 Vol. Alkohol versetzt. Der Krystallbrei wurde centrifugirt, mit einer abgekühlten Mischung aus 4 Vol. Wasser und 1 Vol. Alkohol gewaschen, in wenig Wasser gelöst, die Lösung filtrirt, abgekühlt und wieder mit 1/4 Vol. Alkohol versetzt. Die resultirenden Krystalle wurden noch einmal derselben Procedur unterworfen. Nach der dritten Krystallisation bestand die Krystallmasse aus lauter schönen grossen rhombischen Prismen mit ganz scharfen Kanten. Sie wurden bei 15° C. an der Luft getrocknet.

Dieses Präparat enthielt Spuren von Phosphorsäure.

Präparat II.

Dieses Präparat wurde in der gleichen Weise dargestellt wie das Präparat I, nur wurde hier die Blutkörperchenlösung nach Zusatz von Aether schon centrifugirt, was die nachherige Filtration wesentlich erleichterte. Zu diesem Zwecke stand mir eine ausgezeichnet gearbeitete Centrifuge zu Gebote, welche, getrieben durch einen kleinen Wassermotor von 1/4—1/3 Pferdekraft, 1600—2000 Umdrehungen

[1]) Dieses Präparat wurde schon vor zwei Jahren dargestellt und analysirt. Die Resultate der Analysen habe ich damals in der Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. XII, S. 285, 1888, veröffentlicht.

machte und in 6 Glascylindern zusammen 600 ccm. Flüssigkeit fasste.[1])

2,5 Liter defibrinirten Blutes von zwei mittelstarken Hunden lieferten nach dreimaligem Umkrystallisiren eine Ausbeute von 119,0 gr. Hämoglobin.

Dieses Präparat enthielt nur Spuren von Phosphorsäure, die quantitativ nicht bestimmbar waren.

Analyse.

Bestimmung des Wassergehalts.

Präparat I.

3,0903 gr. der bei Zimmertemperatur getrockneten Krystalle verloren beim Trocknen bei 115 bis 118° C. 0,3339 H_2O = 10,8 % H_2O.

4,0129 gr. verloren 0,4356 H_2O = 10,85 % H_2O.

Zur Controlle wurde eine Bestimmung von Prof. Bunge ausgeführt:

2,2785 gr. verloren 0,2424 H_2O = 10,64 % H_2O.

Als Mittel aus allen drei Bestimmungen findet man 10,76 % H_2O.

Präparat II.

2,6990 gr. der bei Zimmertemperatur getrockneten Krystalle verloren bei 115° C. 0,3072 H_2O = 11,38 % H_2O.

1,9510 gr. verloren 0,2222 H_2O = 11,39 % H_2O.

Als Mittel aus diesen zwei Bestimmungen findet man 11,39 % H_2O.

---

[1]) Dieses sehr empfehlenswerthe Instrument wird geliefert von Herrn Mechaniker F. Runne, Steinenthorstrasse 41, Basel.

Eisenbestimmung.

Zum voraus möchte ich bemerken, dass sämmtliche von mir benutzten Reagentien auf's sorgfältigste geprüft wurden, und alle eisen- und schwefelfrei waren.

Bei den Eisenbestimmungen habe ich immer möglichst grosse Substanzmengen in Arbeit genommen. Diese Bestimmungen geschahen nach drei verschiedenen Methoden.

Zum Titriren wurde das Hämoglobin in einer Platinschale eingeäschert, die Asche in Salzsäure gelöst, die salzsaure Lösung fast zur Trockne eingedampft, mit verdünnter Schwefelsäure aufgenommen, mit Zink reducirt und dann titrirt.

Herr Prof. Bunge hatte die Freundlichkeit, zur Controlle eine Gewichtsanalyse zu machen. Bei derselben wurde folgendermassen verfahren: Einäschern der Substanz, Lösen der Asche in Salzsäure; diese wurde mit Ammoniak abgestumpft bis zur schwach sauren Reaction, Zusatz von essigsaurem Ammon und Erwärmen zur Fällung des basisch essigsauren und phosphorsauren Eisens. Der heiss filtrirte Niederschlag wurde mit heissem essigsaurem Ammon gewaschen, getrocknet, geglüht und gewogen. Das Gewogene wurde in Salzsäure gelöst, darauf Zusatz von Weinsäure und Ammoniak und Fällen mit Schwefelammonium. Das Schwefeleisen wurde in Eisenoxydhydrat umgewandelt, geglüht und gewogen.

Man könnte befürchten, es sei beim Verbrennen des Hämoglobins in der offenen Platinschale ein wenig Eisenoxyd durch die Flamme mechanisch fortgerissen worden und der Werth für das Eisen dadurch zu niedrig ausgefallen. Deshalb wurde noch eine Eisenbestimmung zugleich mit einer Schwefelbestimmung ausgeführt. Beim Zusam-

menschmelzen mit Kalihydrat und Salpeter in der bedeckten Silberschale konnte jedenfalls kein Eisenoxyd fortfliegen. Die Schmelze wurde in heissem Wasser gelöst, die Lösung durch ein aschenfreies Filter filtrirt. Das Eisenoxyd bleibt auf dem Filter und wird mit heissem Wasser ausgewaschen. Das Filter wird in einer Platinschale eingeäschert, die Asche in Salzsäure gelöst. An der Silberschale haftet stets noch ein leichter Anflug von Eisenoxyd. Dieser wird mit etwas ganz verdünnter Salzsäure gelöst. Die filtrirte Lösung wird mit der Lösung der Filterasche in der Platinschale vereinigt und fast bis zur Trockne eingedampft, der Rückstand in verdünnter Schwefelsäure gelöst, reducirt und titrirt.

Resultate der Eisenbestimmung.

Präparat I.

a. 10,1999 gr. (= 9,1020 gr. des trockenen Hämoglobins) werden eingeäschert und in der Asche wird das Eisen durch Titration bestimmt. Es wurden verbraucht 31,4 CC. Chamäleon, Titre 0,000967 Fe pro CC. = 0,3337 %.

b. 8,6662 gr. (= 7,7334 Trockensubstanz) mit Kalihydrat und Salpeter geschmolzen. Das Eisen titrirt = 0,3324 %.

Zur Controlle wurden noch drei Bestimmungen von Prof. Bunge ausgeführt.

c. 10,560 gr. (= 9,423 gr. Trockensubstanz) werden eingeäschert und in der Asche das Eisen durch Titration bestimmt. Es werden gefunden 0,3329 % Fe.

d. 13,712 gr. (= 12,236 gr. Trockensubstanz) mit Kali und Salpeter geschmolzen. Das Eisen titrirt, gefunden: 0,3314 % Fe.

e. 26,509 gr. (= 23,658 Trockensubstanz) werden eingeäschert und das Eisen durch Gewichtsanalyse bestimmt. Es werden gefunden 0,1126 Fe_2O_3 = 0,07882 Fe = 0,3331 % Fe.

Als Mittel aus allen fünf Bestimmungen findet man **0,3327** Fe.

Präparat II.

a. 8,4534 gr. (= 7,4909 Trockensubstanz) mit Kali und Salpeter geschmolzen. Das Eisen titrirt. Es werden verbraucht 23,3 CC. Chamäleon, Titre 0,001082 = 0,3365 % Fe.

b. 9,7120 gr. (= 8,6063 Trockensubstanz) in der Platinschale eingeäschert. Das Eisen titrirt. Es wurden verbraucht 26,8 CC. Chamäleon, Titre 0,001082 = 0,337 % Fe.

c. 8,5028 gr. (= 7,5347 Trockensubstanz) mit Kali und Salpeter geschmolzen. Das Eisen titrirt. Es wurden verbraucht 23,0 CC. Chamäleon, Titre 0,001095 = 0,3343 % Fe.

Als Mittel aus diesen drei Bestimmungen findet man **0,336** % Fe.

Schwefelbestimmung.

Die Schwefelbestimmung wurde folgendermassen vorgenommen: Die Substanz wurde zuerst mit concentrirter Salpetersäure in einer Kochflasche bis zur Auflösung erwärmt, die dunkelbraune salpetersaure Lösung abgedampft bis zur dick syrupösen Consistenz. Der Rückstand wurde mit Wasser aufgenommen, dazu das doppelte Gewicht des angewandten Hämoglobins an Aetzkali und das $2^1/_2$fache Gewicht an Salpeter zugesetzt, in der Silberschale zur Trockne

eingedampft und geschmolzen. Hie und da tritt beim Schmelzen die Reaction so heftig ein, dass ein Theil von der Masse aus der Schale geschleudert wird. Um dies zu verhindern muss man die Masse im Luftbad erhitzen bis sie vollständig trocken erscheint. Erst dann kann man ohne Gefahr schmelzen; die Reaction tritt nur allmälig und ganz ruhig ein. Die Schmelze wird in Wasser aufgelöst und zuerst vom suspendirten Eisenoxyd durch Filtration befreit. Dieses muss auch dann geschehen, wenn das Eisen nicht in derselben Portion bestimmt werden soll, weil sonst beim Herausfallen des schwefelsauren Baryums Eisen mitgerissen wird. Es handelt sich jetzt darum, alles Alkali in Chlorid zu verwandeln, die Salpeter- und salpetrige Säure auszutreiben, da ihre Salze vom Barytniederschlag mitgerissen werden und das Gewicht des Niederschlags vergrössern. Dazu muss man die Salzmasse einige Male mit grösseren Mengen Salzsäure abdampfen. Ich habe mich überzeugen können, dass wenn man nicht zu grosse Quantitäten Substanz in Arbeit genommen hat, ein dreimaliges Abdampfen vollständig genügend ist, um die Salpetersäure bis auf geringe Spuren zu entfernen. Kleine Proben der Salzmasse mit Schwefelsäure angesäuert sollen sich nach Zusatz von Jodkaliumstärkekleister und metallischem Zink nicht bläuen.

Es handelt sich jetzt darum, eine kleine Quantität Schwefelsäure von einer grossen Menge Chlorkalium zu trennen. Man könnte vielleicht befürchten, dass die concentrirte Chlorkaliumlösung die vollständige Fällung des schwefelsauren Baryts hemmen würde. Ich habe die Versuche von Zinoffsky wiederholt und bin zum gleichen Resultate gekommen, nämlich dass die Schwefelsäure selbst in ganz kleinen Quantitäten, aus einer concentrirten Lösung

von Chlorkalium, nach Zusatz von wenig Salzsäure durch Chlorbaryum vollständig ausgefällt wird. Zu niedrige Resultate bekommt man aber leicht, wenn man die Lösung zu stark ansäuert.

Resultate der Analysen.

Präparat I.

a. 8,6662 gr. (= 7,7334 Trockensubstanz) gaben
0,305 SO_4Ba = 0,5417 % S.

b. 10,605 gr. (= 9,464 Trockensubstanz) gaben
0,3730 SO_4Ba = 0,5414 % S.

Als Mittel ergibt sich **0,5416** % S.

Präparat II.

a. 8,2280 gr. (= 7,2912 Trockensubstanz) gaben
0,3020 SO_4Ba = 0,0415 S. = 0,5688 % S.

b. 8,5028 gr. (= 7,5347 Trockensubstanz) gaben
0,3108 SO_4Ba = 0,0427 S. = 0,5665 % S.

Als Mittel aus diesen zwei Bestimmungen finden wir **0,568** % S.

Bestimmung des C und H.

Die bei 115° getrocknete Substanz wurde wie gewöhnlich in einer Verbrennungsröhre mit vorgelegtem chromsaurem Bleioxyd, Kupferoxyd und einer 25 cm. langen im Wasserstoffstrome frisch ausgeglühten Kupferspirale, im Sauerstoffstrome verbrannt.

Präparat I.

a. 0,4338 bei 115° C. getrockneten Hämoglobins gaben
0,2540 H_2O = 6,505 % H
und 0,8555 CO_2 = 53,8 % C.

b. 0,4006 Hämoglobin gaben

0,2426 H_2O = 6,727 % H

0,7933 CO_2 = 54,01 % C.

Als Mittel ergibt sich C = **53,91**
H = **6,62.**

Präparat II.

a. 0,3802 gr. bei 115° C. getrockneten Hämoglobins gaben

0,2432 H_2O = 0,027 H = 7,11 % H

0,7602 CO_2 = 0,2073 C = 54,52 % C.

b. 0,3205 gr. Hämoglobin gaben

0,2048 H_2O = 0,0228 H = 7,1 % H

0,6411 CO_2 = 0,1748 C = 54,55 % C.

c. 0,3218 gr. Hämoglobin gaben

0,2158 H_2O = 0,0240 H = 7,45 % H

0,6448 CO_2 = 0,1758 C = 54,64 % C.

Als Mittel ergibt sich H = **7,22 %**
C = **54,57 %.**

Bestimmung des N.

Diese wurde nach der Will-Warrentrapp'schen Methode ausgeführt.

Präparat I.

a. 0,2878 gr. Hämoglobin gaben 0,3253 Pt = 16,06 % N

b. 0,3176 „ „ „ 0,3588 „ = 15,90 „ „

Mittel: **15,98** % N.

Präparat II.

a. 0,2823 gaben 0,3281 Pt = 0,0464 N = 16,44 %

b. 0,2833 „ 0,327 „ = 0,0463 „ = 16,33 „

Mittel: **16,38** % N.

Zur Uebersicht stelle ich die Resultate der Analysen noch einmal zusammen:

	Präparat I.		Präparat II.	
C	53,8 54,01	53,91	54,52 54,55 54,64	54,57
H	6,505 6,727	6,62	7,11 7,1 7,45	7,22
N	16,06 15,90	15,98	16,44 16,33	16,38
S	0,5417 0,5414	0,5416	0,5688 0,5665	0,568
Fe	0,3337 0,3324 0,3329 0,3314 0,3331	0,3327	0,3365 0,3370 0,3343	0,336
O		23,43		20,93

Berechnen wir nun die Anzahl der Schwefelatome, die auf ein Atom Eisen kommen, so finden wir für das Präparat I:

$$\frac{56}{x.\ 32} = \frac{0{,}3327}{0{,}5416};\ x = 2{,}85,$$

für das Präparat II finden wir:

$$\frac{56}{x.\ 32} = \frac{0{,}336}{0{,}568};\ x = 2{,}96.$$

Die Schwefelbestimmungen im Präparat I haben offenbar zu niedrige Zahlen ergeben. Durch die verbesserte Darstellungsmethode, sowie durch die grössere Uebung, die ich bei den Analysen des Präparates I erlangt habe, glaube

ich mich berechtigt, die Zahlen, die ich am Präparat II bekommen habe, als die richtigen anzusehen. Aus diesen Zahlen geht unzweifelhaft hervor, dass auf 1 Atom Eisen 3 Atome Schwefel im Hundehämoglobinmolekül kommen. Diese Thatsache wurde früher schon allgemein angenommen; einen analytischen Beweis dafür besass man aber nicht, denn die Zahlen der anderen Autoren weichen ziemlich von diesem Verhältniss ab:

	Fe	S	Auf 1 Atom Fe kommen Atome S.
C. Schmidt	0,43	0,66	2,68
Hoppe-Seyler	0,43	0,39	1,60
Otto [1])	0,42	0,63	2,63

Ich gebe schliesslich die aus drei von mir gefundenen Werthen resultirende Formel des Hundehämoglobins

$$C_{758}\ H_{1203}\ N_{195}\ S_3\ Fe\ O_{218}$$

mit einem Molekulargewichte von 16669.

Hühnerbluthämoglobin.

Zur weiteren Verfolgung der Frage habe ich noch versucht, das Hämoglobin eines Thieres aus einer anderen Classe der Wirbelthiere darzustellen. Ich wählte das Vogelblut. Wir besitzen bis jetzt nur eine Analyse des Gänsebluthämoglobins, von Hoppe-Seyler. Dieses Präparat enthält jedoch eine beträchtliche Menge Phosphorsäure (0,77 %), was bei den anderen Hämoglobinarten gar nicht der Fall ist, wo die Phosphorsäure im Gegentheil als Zeichen der Unreinheit eines Präparates angesehen wird.

[1]) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VII, 1882, S. 61, angeführt ohne Quellenangabe oder analytische Belege.

Es war der Mühe werth zu untersuchen, ob wirklich Phosphorsäure im Vogelbluthämoglobin vorkommt, oder wenn sie darin nur als Verunreinigung enthalten ist, ob es nicht möglich wäre sie fortzuschaffen. Als Vogel habe ich das Huhn gewählt, weil hier Gänseblut nicht zu bekommen ist, und weil es von Interesse wäre, die Zusammensetzung des Hühnerhämoglobins mit der Vorstufe desselben, dem Hämatogen zu vergleichen.

Darstellung des Präparates.

Wenn man die Blutkörperchen in Wasser bei 35° C. gelöst hat und die lackfarbene Flüssigkeit mit Aether behandelt, so bekommt man eine dünne Gallerte, die nicht zu filtriren ist und sich sehr schwer centrifugiren lässt. Die Kerne sind unzerstört in die Lösung suspendirt. Wie ich weiter oben schon erwähnt habe, kann man dieselben mit wenig Baryt fällen. Die Lösung lässt sich dann leicht filtriren, die Krystallisation scheint mir aber dadurch beeinträchtigt.

Eine gute Methode, um eine klare Hämoglobinlösung zu bekommen, ist folgende: Nachdem man die Blutkörperchen vom Serum getrennt hat, schüttelt man sie mit dem gleichen Volumen Wasser und $^1/_3$ Volumen Aether. Die Blutkörperchen werden dadurch zerstört und die Flüssigkeit nimmt die Consistenz einer dünnen Gallerte an. Erhitzt man während einiger Zeit auf 35° C., so scheiden sich aus der Flüssigkeit dicke dunkelrothe Gallertklumpen ab, die dann durch die Centrifuge sehr leicht zu trennen sind. Die abgeschiedene klare dunkelrothe Lösung lässt sich leicht filtriren. Das weitere Verfahren ist dasselbe wie bei den andern Blutarten. Bei der ersten Krystallisation bekommt man einen dicken Krystallbrei, bestehend aus kleinen, leicht löslichen Nadeln. Beim Umkrystallisiren bekommt man

theilweise rhombische Tafeln, theilweise rhombische Prismen, die sich zu radiären Bildungen vereinigen.

Das Präparat wurde drei Male umkrystallisirt. Bei der Lösung der ersten Krystallisationsproducte sah man noch Stromata in der Flüssigkeit, die nächste Lösung war aber vollkommen rein.

Da es mir nicht möglich war, auf einmal die genügende Quantität Blut zu bekommen, war ich gezwungen, mit kleinen Portionen die erste Krystallisation vorzunehmen. Ich bewahrte dann die Krystalle in der Waschflüssigkeit (4 Th. Wasser, 1 Th. Alcohol) bei 0° auf, bis ich eine genügende Menge hatte, um die weitern Krystallisationen vornehmen zu können. Die Krystalle blieben dabei schön roth und zeigten am Spectroscop zwei reine Oxyhämoglobinstreifen.

2080 CC. defibrinirten Blutes von 77 Hühnern, nach der oben angegebenen Methode behandelt, lieferten eine Ausbeute von 22 gr. Hämoglobin.

Analyse.

Dieses Präparat wurde nach den gleichen Methoden analysirt wie das Hundehämoglobin. Die Phosphorsäure wurde in der gleichen Portion wie der Schwefel bestimmt.

Nach dem Filtriren des schwefelsauren Baryts wurde die Lösung mit concentrirter Salpetersäure angesäuert, ein grosser Ueberschuss von Molybdänflüssigkeit zugesetzt, 24 Stunden an einen warmen Ort gestellt, decantirt und gewaschen, mit einer Mischung von 10 Theilen Molybdänflüssigkeit, 2 Theilen Salpetersäure und 8 Theilen Wasser. Der Niederschlag wurde dann in Ammoniak gelöst und aus der Lösung die Phosphorsäure mit Magnesiamixtur gefällt.

Wassergehalt.

2,2214 gr. des bei Zimmertemperatur getrockneten Hämoglobins verloren bei 115° 0,2074 H_2O = 9,336 %.

2,5157 gr. Hämoglobin verloren bei 115° C. 0,2347 H_2O = 9,33 %.

Mittel: **9,333 %.**

Eisenbestimmung.

Alle Eisenbestimmungen wurden gleichzeitig mit der Schwefelbestimmung vorgenommen.

6,2834 gr. (= 5,6970 Trockensubstanz) mit Kali und Salpeter geschmolzen. Das Eisen titrirt. Es wurden verbraucht 17,5 CC. Chamäleon, Titre 0,0010814 Fe pro CC. = 0,3322 % Fe.

6,3949 gr. (= 5,7981 Trockensubstanz). Idem. Das Eisen titrirt. Es wurden verbraucht 18,1 CC. Chamäleon, Titre 0,0010814 Fe pro CC. = 0,3376 % Fe.

4,6093 gr. (= 4,1791 Trockensubstanz). Idem. Das Eisen titrirt. Es wurden verbraucht 13,0 CC. Chamäleon, Titre 0,0010814 Fe pro CC. = 0,3364 % Fe.

Als Mittel für diese drei Bestimmungen finden wir **0,3353** %.

Schwefelbestimmung.

6,2834 gr. (= 5,6970 Trockensubstanz) gaben 0,3564 SO_4Ba = 0,04895 S = 0,8592 % S.

6,3949 gr. (= 5,7981 Trockensubstanz) gaben 0,3622 SO_4Ba = 0,04974 S = 0,858 % S.

Die dritte S-Bestimmung verunglückte.

Als Mittel ergibt sich: **0,8586.**

Phosphorbestimmung.

6,2834 gr. (= 5,697 Trockensubstanz) gaben 0,0402 $P_2O_7Mg_2$ = 0,0257 P_2O_5 = 0,011221 P = 0,1970 % P.

4,6093 gr. (= 4,1791 Trockensubstanz) gaben 0,0296 $P_2O_7Mg_2$ = 0,0189 P_2O_5 = 0,0083 P = 0,1977 % P.

Mittel: **0,1973.**

C- und H-Bestimmung.

a. 0,4054 gr. geben 0,7788 CO_2 = 0,2124 C = 52,39 % C.
0,4054 „ „ 0,2596 H_2O = 0,0288 H = 7,11 % H.
b. 0,3589 „ „ 0,6928 CO_2 = 0,1889 C = 52,64 % C.
0,3589 „ „ 0,2336 H_2O = 0,0260 H = 7,23 % H.
c. 0,3630 „ „ 0,6974 CO_2 = 0,1902 C = 52,39 % C.
0,3630 „ „ 0,2369 H_2O = 0,0237 H = 7,22 % H.

Als Mittel ergibt sich **C = 52,47 %.**
H = 7,19 %.

N-Bestimmung.

a. 0,2154 gr. Hämoglobin gaben 0,2490 Pt = 0,0352 N = **16,36 %** N.
b. 0,3206 „ „ „ 0,3749 Pt = 0,0531 N = **16,54 %** N.

Mittelzahlen:

C = 52,47	Fe = 0,3353
H = 7,19	P = 0,1973
N = 16,45	O = 22,5.
S = 0,8586	

Das Verhältniss des Schwefels zum Eisen ist:

$$\frac{56}{x.32} = \frac{0,3353}{0,8586};\ x = 4,485.$$

Dieses Präparat enthält daneben noch eine merkliche Menge P. Schon diese grosse Menge macht die Annahme einer Verunreinigung unwahrscheinlich. Diese Unwahrschein-

lichkeit wird noch erhöht, wenn man das Verhältniss des P zum Fe betrachtet. Wir haben nämlich

$$\frac{56}{x\ 31} = \frac{0{,}3353}{0{,}1973};\ x = 1{,}01.$$

Dieses Verhältniss mag zufällig sein, dennoch ist es beachtenswerth. Leider war das Sammeln des Materials zu schwierig, um mir die Darstellung andrer Präparate zu gestatten. Ich hoffe, in der nächsten Zeit die Frage weiter verfolgen zu können.

Das Verhältniss des Schwefels zum Eisen scheint auf den ersten Blick kein einfaches zu sein; wenn wir uns aber das Molekül verdoppelt denken, so kommen wir zum Verhältniss von 2 Fe : 9 S, was nicht undenkbar wäre.

Ueber die Art der Schwefelbindung kann ich noch hinzufügen, dass weder das Hühnerhämoglobin, noch das Pferde- und Hundehämoglobin mit alkalischer Bleilösung abspaltbaren Schwefel enthalten. Setzt man zur alkalischen Hämoglobinlösung einen Tropfen Chlormagnesiumlösung und kocht, so fällt das Hämatin mit der Magnesia heraus, und man erhält ein nahezu farbloses Filtrat. Kocht man dieses Filtrat mit alkalischer Bleilösung, so tritt keine Schwärzung ein.

Schlussbetrachtungen.

	Pferd (Zinoffsky).	Hund.	Huhn.
C	51,15	54,57	52,47
H	6,76	7,22	7,19
N	17,94	16,38	16,45
S	0,3899	0,568	0,8586
Fe	0,3351	0,336	0,3353
O	23,4251	20,93	22,5
P_2O_5			0,1973
	100,0001	100,004	100,0006

Betrachten wir die Resultate, die Zinoffsky und ich bekommen haben, so können wir von vorne herein den Satz aufstellen, dass die Hämoglobine der verschiedenen Blutarten verschieden sind. Der Eisengehalt aber ist der gleiche für alle drei Hämoglobinarten. Diese Thatsache mag uns zum Schluss berechtigen, dass die eisenhaltige Gruppe für die verschiedenen Hämoglobine die gleiche sei. Zum gleichen Resultate gelangte von Noorden[1]) mittelst der spectrophotometrischen Constantenbestimmung am Blute und Hämoglobinpräparaten der verschiedensten Thiere. Ich gebe hier die Zahlen wieder, die er bekommen hat für den Quotienten

$$\frac{Ao}{Ao^1}$$

Thierspecies.	Blutlösung.	Farbstofflösung.
Hund	1,330	1,324
Ratte	1,337	1,349
Meerschweinchen	1,359	1,357
Eule	1,311	—
Katze	1,326	—
Mensch	1,320	—
Mittel =	1,330	1,343.

Aus diesen Zahlen geht mit Wahrscheinlichkeit hervor, dass die färbende, beziehungsweise lichtabsorbirende Gruppe in allen einzelnen Hämoglobinen dieselbe sei.

Wie verhalten sich aber unsere Eisenzahlen gegenüber dem Gehalte des arteriellen Farbstoffs an locker gebundenem Sauerstoff? Hüfner[2]) und seine Schüler Marshall[3]), Otto[4])

[1]) Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. IV, S. 9. 1880.
[2]) Id. Bd. I, S. 317. Bd. III, S. 1. Bd. VIII, S. 358. 1879.
[3]) Id. Bd. VII, S. 81. 1883.
[4]) Id. Bd. VII, S. 57. 1883.

und Külz[1]) haben vermittelst der Verdrängungsmethode mit CO die Menge von Sauerstoff bestimmt, die 1 gr. krystallinisches Hämoglobin zu binden im Stande ist. Sie haben den Quotienten $\frac{V}{h}$ bestimmt, wo V die Menge des losen gebundenen Sauerstoffs darstellt und h die Menge des Hämoglobins. Wenn man die Zahlen, die sie bekommen haben, untersucht im Verhältniss zu ihren Zahlen für den Eisengehalt der betreffenden Hämoglobinart, so findet man, dass diese Zahlen nahezu in einem einfachen Verhältniss stehen. Welches wird dieses Verhältniss mit unseren Eisenzahlen?

Hundehämoglobin.

Marshall fand bei 0° und 1 m Druck $\frac{V}{h} = 1{,}205$ CC.

1,205 CC. = 0,00227 gr.

$$\frac{56}{x.16} = \frac{0{,}336}{0{,}227};\ x = 2{,}37 \text{ (Jaquet).}$$

$$\frac{56}{x.16} = \frac{0{,}42}{0{,}227};\ x = 1{,}892 \text{ (Hoppe-Seyler).}$$

Wir sehen, dass das Verhältniss $\frac{O}{Fe}$ für die Eisenzahl von Hoppe-Seyler sich eines einfachen nähert, während es für meine Eisenzahl gar nicht der Fall ist.

Die Zahl 1,205 ist aber eine Mittelzahl. Betrachten wir nun, wie sich die Grenzzahlen verhalten.

$$\left\{\begin{array}{l}\text{Minimum } \frac{V}{h} = 1{,}129 \text{ bei } 0{,}336\ \%\ \text{Fe.} \quad \frac{O}{Fe} = 2{,}22. \\ \text{Maximum } \frac{V}{h} = 1{,}305 \text{ „ } 0{,}336\ \%\ \text{Fe.} \quad \frac{O}{Fe} = 2{,}56.\end{array}\right.$$

[1]) Id. Bd. VII. 1883.

Minimum $\frac{V}{h} = 1{,}129$ bei 0,42 % Fe. $\frac{O}{Fe} = 1{,}774.$

Maximum $\frac{V}{h} = 1{,}305$ „ 0,42 % Fe. $\frac{O}{Fe} = 2{,}05.$

Pferdehämoglobin.

Hüfner fand bei 0° und 1 m Druck $\frac{V}{h} = 1{,}39.$

Machen wir nun die gleiche Ausrechnung wie für das Hundeblutbämoglobin.

1,39 CC. = 0,002621 gr.

Mittel $\frac{V}{h} = 1{,}39$ bei 0,3355 % Fe (Zinoffsky) $\frac{O}{Fe} = 2{,}734.$

„ $\frac{V}{h} = 1{,}39$ bei 0,46 % Fe (Kossel, Otto, Bücheler)

$\frac{O}{Fe} = 1{,}99.$

Minimum $\frac{V}{h} = 1{,}27$ bei 0,3355 % Fe. $\frac{O}{Fe} = 2{,}5.$

Maximum $\frac{V}{h} = 1{,}80$ „ 0,3355 % Fe. $\frac{O}{Fe} = 3{,}54.$

Minimum $\frac{V}{h} = 1{,}27$ bei 0,46 % Fe. $\frac{O}{Fe} = 1{,}82.$

Maximum $\frac{V}{h} = 1{,}80$ „ 0,46 % Fe. $\frac{O}{Fe} = 2{,}58.$

Alle diese Zahlen gehen ziemlich weit auseinander. Die Ursache dieses scheinbaren Widerspruches bin ich hier nicht im Stande anzugeben. Am Bestehen eines einfachen Verhältnisses zwischen Sauerstoff und Eisen kann kaum gezweifelt werden. Die letzte Arbeit von Hoppe-Seyler[1]) hat noch einen Beweis mehr dafür gebracht. Die Sache ist vielleicht nicht so einfach, wie man es gedacht hat, es

[1]) Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. XIII, S. 477. 1889.

kommen möglicherweise noch andere Factoren in Betracht und wir müssen abwarten, bis ausgedehntere Kenntnisse über die physikalische Chemie des Oxyhämoglobins uns aufklären und den Schlüssel geben zur Lösung dieser Frage.

Zum Schlusse möchte ich noch einen Versuch erwähnen, um Lachshämoglobin darzustellen. Ich versuchte nach allen möglichen Weisen Krystalle zu bekommen, es wollte mir aber nicht gelingen. Erst beim Einschliessen und Faulenlassen von Blut in Glasröhren bekam ich Krystalldrusen und einzelne schöne rhombische Prismen zu Gesicht. Diesen Misserfolg glaube ich dem grossen Reichthum des Blutkuchens an Fett und Eiweiss zuschreiben zu müssen. Das Blut wurde Anfangs October gesammelt, in einer Zeit, wo der „Liquidationsprocess“ [1]) beim Lachs ein reger ist. Beim Centrifugiren zum Trennen der Blutkörperchen sammelte sich an der Oberfläche eine wahre Rahmschicht. Nachträglich noch beim Faulenlassen schien sich noch Fett abzuscheiden und ich beobachtete zahlreiche Fettsäurekrystalle in einem amorphen Niederschlag.

---

[1]) Miescher-Rüsch, Statistische und biologische Beiträge zur Kenntniss vom Leben des Rheinlachses. Separatabdruck aus der schweizerischen Litteratursammlung zur internationalen Fischerei-Ausstellung in Berlin 1880, S. 183, und Archiv für Anatomie und Physiologie. 1881. Anatom. Abth., S. 193.